

**POTENSI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN TIGA FRAKSI DARI
KULIT AKAR MANGROVE KEDABU (*Sonneratia ovata*) TERHADAP SEL
KANKER MCF-7**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada
Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi**

Oleh:

FEGGY GIYANIRFANI

K 100 160 167

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2020**

HALAMAN PERSETUJUAN

**POTENSI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN TIGA FRAKSI DARI
KULIT AKAR MANGROVE KEDABU (*Sonneratia ovata*) TERHADAP SEL
KANKER MCF-7**

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

FEGGY GIYANIRFANI

K 100 160 167

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Dr. Harvoto, M.Sc

NIP. 196206061988031001

HALAMAN PENGESAHAN

POTENSI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN TIGA FRAKSI DARI KULIT AKAR MANGROVE KEDABU (*Sonneratia ovata*) TERHADAP SEL KANKER MCF-7



Ketua Dewan Penguji: apt. Azis Saifudin, Ph.D.

Anggota 1 Dewan Penguji: apt. Broto Santoso, M.Sc.

Anggota 2 Dewan Penguji: Dr. Haryoto, M.Sc.

Mengesahkan
Dekan,



apt. Azis Saifudin, Ph.D

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 30 Juni 2020

Penulis



FEGGY G. YANIRFANI

K 100 160 167

POTENSI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN TIGA FRAKSI DARI KULIT AKAR MANGROVE KEDABU (*Sonneratia ovata*) TERHADAP SEL KANKER MCF-7

Abstrak

Pengobatan yang terakhir untuk kanker adalah kemoterapi dengan efek samping kurang menyenangkan, penyembuhan kurang tuntas bahkan terjadi resistensi obat. Mangrove genus *Sonneratia* mengandung senyawa berpotensi sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi sitotoksik ekstrak etanol dan tiga fraksi kulit akar mangrove kedabu serta mengetahui kandungan senyawa dari ekstrak etanol mangrove kedabu. Kulit akar mangrove kedabu diekstraksi dengan metode maserasi dan difraksinasi dengan metode partisi cair-cair. Kromatografi lapis tipis digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa ekstrak etanol kulit akar mangrove kedabu dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat:n-heksana:metanol (9:1:0,1). Metode MTT assay digunakan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik. Seri konsentrasi yang digunakan, yaitu 800, 400, 200, 100, dan 50 µg/mL. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat dari kulit akar mangrove kedabu memiliki potensi aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7 dengan nilai IC₅₀ masing-masing, yaitu 644,008 dan 595,164 µg/mL. Ekstrak etanol dan fraksi etanol:air tidak memiliki potensi aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7. Golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol, yaitu flavonoid, terpenoid, steroid, dan fenolik.

Kata Kunci: Kanker payudara, sel MCF-7, sitotoksik, MTT assay, *Sonneratia ovata*

Abstract

The last treatment for cancer is chemotherapy with unpleasant side effects, incomplete healing, and even drug resistance. The genus *Sonneratia* mangrove contains potential compounds as an anticancer. This study aims to determine the cytotoxic potential of ethanol extract and three fractions of mangrove kedabu root bark and determine the compound content of ethanol extract of mangrove kedabu. The mangrove kedabu root bark was extracted by maceration method and fractionated by the liquid-liquid partition method. Thin-layer chromatography was used to determine the content of the ethanol extract compound from the mangrove kedabu root bark with silica gel GF₂₅₄ and the mobile phase of ethyl acetate: n-hexane: methanol (9:1:0.1). The MTT assay method is used to determine cytotoxic activity. The concentration series used were 800, 400, 200, 100, and 50 µg/mL. The results of this study indicate that the n-hexane fraction and the ethyl acetate fraction of the mangrove kedabu root bark have the potential cytotoxic activity against MCF-7 cancer cells with IC₅₀ values of 644.008 and 595.164 µg/mL, respectively. Ethanol extract and ethanol fraction: water has no potential cytotoxic activity against MCF-7 cancer cells. Group of compounds contained in ethanol extract, namely flavonoids, terpenoids, steroids, and phenolics.

Keyword: Breast cancer, MCF-7 cells, cytotoxic, MTT assay, *Sonneratia ovata*

1. PENDAHULUAN

Salah satu penyakit yang menjadi penyebab utama kematian di dunia adalah penyakit kanker. Negara industri ataupun negara berkembang mempunyai angka kematian yang tinggi disebabkan oleh

kanker (Al-Dimassi *et al.*, 2014). Kanker adalah suatu penyakit abnormalitas genetik yang diinduksi akibat pewarisan genetik ataupun perubahan sel-sel somatik setelah terpapar zat-zat karsinogenik (Yudhani, 2014). Berdasarkan data GLOBOCAN tahun 2018, diketahui bahwa kanker payudara merupakan kanker dengan angka persentase tertinggi, yaitu 46,3% dan persentase kematian yang diakibatkan sebesar 13,0%. Menurut data riset kesehatan dasar tahun 2013, prevalensi kanker payudara di Indonesia sebesar 0,5% dan merupakan prevalensi kanker tertinggi setelah kanker serviks (Kemenkes RI, 2015).

Pengobatan kanker saat ini salah satunya dengan kemoterapi, namun memiliki efek samping yang kurang menyenangkan, penyembuhan yang kurang tuntas bahkan terjadi resistensi obat (Handoko *et al.*, 2011) sehingga perlu pengembangan alternatif pengobatan yang berasal dari bahan alam. Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan flora di dunia, memiliki berbagai macam tumbuhan yang berpotensi untuk pengobatan kanker salah satunya adalah tumbuhan mangrove. Indonesia tercatat sebagai negara yang memiliki jenis mangrove terkaya di dunia (Dahdouh-Guebas, 2011). Vegetasi hutan mangrove di Indonesia memiliki keanekaragaman jenis yang tinggi dan terdapat salah satu jenis tumbuhan sejati penting atau dominan yang termasuk ke dalam 4 famili yaitu : *Rhizophoraceae* (*Rhizophora*, *Bruguiera*, *Ceriops*), *Sonneratiaceae* (*Sonneratia*), *Avicenniaceae* (*Avicenia*) dan *Meliaceae* (*Xylocarpus*) (Matan *et al.*, 2010).

Salah satu spesies dari famili *Sonneratia* adalah mangrove kedabu. Mangrove kedabu memiliki potensi sebagai antikanker. Bagian yang dapat dimanfaatkan dari tumbuhan mangrove adalah akar, kulit batang, buah, dan daun. Kandungan senyawa yang diisolasi dari buah mangrove kedabu adalah (-)-(R)-nyasol, (-)-(R)-4'-O-metilnyasol, dan asam maslinat yang menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap tikus glioma C-6 *cell line* dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 19,02; 20,21; dan 31,77 µg/mL (Wu *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian Nguyen *et al.* (2015) senyawa (7S,8R)-Dehidrokoniferil alkohol; (7S,8R)-5-metoksideohidrokoniferil alkohol; dan sonnerfenolik C yang diisolasi dari daun mangrove kedabu menunjukkan efek penghambatan sel yang selektif dan moderat terhadap sel MCF-7 dengan IC₅₀ berturut-turut 146,9 ± 9,0; 114,5 ± 7,2; dan 112,8 ± 9,4 µM. Mangrove kedabu mewakili sumber daya hayati yang kaya dan dengan mudah dikumpulkan di hutan mangrove, sehingga mangrove kedabu layak untuk dipelajari lebih untuk mendapatkan produk farmasi yang berharga.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, maka akan dilakukan penelitian tentang potensi sitotoksik ekstrak etanol dan tiga fraksi dari kulit akar mangrove kedabu terhadap sel kanker payudara MCF-7 yang belum pernah dilakukan sebelumnya sehingga dapat menjadi alternatif

pengobatan kanker payudara yang merupakan kanker dengan prevalensi tertinggi setelah kanker serviks di Indonesia.

2. METODE

2.1 Alat

Pisau, blender, timbangan analitik, toples kaca, sendok pengaduk, *rotary evaporator*, *waterbath*, *sonicator*, corong buchner, corong pisah, *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator CO₂, mikropipet, tangki nitrogen cair, mikroskop, kamera optik, *centrifuge*, *conical tube*, hemositometer, lampu UV 254 dan 366 nm, *autoclave*, *96-well plate*, *handtally counter*, *ELISA reader*, dan *cytotoxic safety cabinet*.

2.2 Bahan

Kulit akar mangrove kedabu, etanol 96%, aquades, n-heksana, etil asetat, pereaksi Dragendorff, pereaksi sitroborat, pereaksi FeCl₃, pereaksi Lieberman-Burchard, pereaksi vanilin asam sulfat, sel MCF-7, dimetil sulfoksida (DMSO), 3-[4,5dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazoliumbromid (MTT), *Phosphate Buffered Saline* (PBS), *Fetal Bovine Serum* (FBS), *Dulbecco's Modified Eagle's Media* (DMEM), *Rosewell Park Memorial Institue* (RPMI), SDS (Sodium Dodesil Sulfat), 10% dalam HCL 0,01 N, silika GF254, etil asetat p.a, n-heksana p.a, metanol p.a, dan epirubisin.

2.3 Ekstraksi

Akar mangrove kedabu yang sudah kering kemudian diserut kulitnya dan dihaluskan dengan blender kemudian ditimbang sebanyak 200 gram. Kulit akar mangrove kedabu diekstraksi menggunakan metode maserasi yang mengacu dari Haryoto (2019). Kulit akar mangrove kedabu dimasukkan ke dalam toples kaca kemudian ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan simplisia kulit akar mangrove kedabu dan etanol 96%, yaitu 1:7. Maserasi dilakukan selama 3 hari dan diaduk sesekali. Hasil maserasi disaring dan diuapkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

2.4 Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak etanol dari kulit akar mangrove kedabu dilakukan dengan cara partisi cair-cair menggunakan corong pisah. Penyari yang digunakan, yaitu etil asetat, n-heksana, dan etanol. Fraksinasi dilakukan dengan menimbang ekstrak etanol dari kulit akar mangrove kedabu sebanyak 5 gram yang dilarutkan dalam air:etanol (1:1) sebanyak 100 mL, kemudian ditambahkan penyari yang memiliki kepolaran berbeda, yaitu n-heksana sebanyak 100 mL ke dalam corong pisah. Campuran ekstrak dan penyari digojoy hingga terbentuknya 2 lapisan, yaitu fraksi n-heksana dan fraksi air:etanol dan dipisahkan fase lapisan tersebut. Fraksi air:etanol difraksinasi lagi dengan etil asetat sebanyak 100 mL ke dalam corong pisah, diperoleh fraksi air:etanol dan fraksi etil asetat dan

dipisahkan fase lapisan tersebut. Hasil fraksinasi yang diperoleh, yaitu fraksi n-heksana, etil asetat, dan air:etanol dari kulit akar mangrove kedabu. Hasil fraksinasi diuapkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

2.5 Uji Sitotoksik

Metode MTT *assay* dilakukan untuk menguji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dan tiga fraksi dari kulit akar mangrove kedabu. Langkah pertama pengujian dilakukan panen sel dan perhitungan sel. Perhitungan sel dilakukan dibawah mikroskop dengan bantuan counter. Sel MCF-7 dengan kepadatan $182 \times 10^4/\text{mL}$ diisikan pada microplate 96 wells sebanyak 100 $\mu\text{L}/\text{wells}$ dan disisakan 7 wells untuk kontrol media. Sel diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 48 jam pada suhu 37°C. Ekstrak etanol dan tiga fraksi ditimbang masing-masing 10 mg dalam eppendorf, ditambahkan 100 μL DMSO, divorteks hingga larut, kemudian ditambahkan media DMEM hingga 1000 μL . Konsentrasi ekstrak etanol dan tiga fraksi dibuat seri konsentrasi masing-masing 800, 400, 200, 100, dan 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diisikan pada microplate 96 wells yang berisi sel sebanyak masing-masing 100 $\mu\text{L}/\text{sumuran}$ dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 48 jam pada suhu 37°C. Pereaksi MTT diisikan pada microplate 96 wells sebanyak 100 $\mu\text{L}/\text{sumuran}$ dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 2 jam pada suhu 37°C kemudian ditambahkan SDS 10% dalam HCL 0,01 N pada microplate 96 wells sebanyak 100 $\mu\text{L}/\text{sumuran}$. Microplate 96 wells dibungkus dengan alumunium foil dan diinkubasi ditempat gelap pada suhu kamar selama semalam. Hasil pengujian dibaca menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm berupa absorbansi. Data absorbansi digunakan untuk menghitung persentase sel hidup dan dibuat kurva hubungan log konsentrasi vs % sel hidup kemudian dihitung nilai IC₅₀ (CCRC UGM, 2009). Data hasil absorbansi kontrol pelarut lebih rendah dari absorbansi kontrol sel sehingga persentase sel hidup dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ Sel hidup} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media})}{(\text{Absorbansi kontrol pelarut} - \text{Absorbansi kontrol media})} \times 100\% \quad (1)$$

2.6 Analisis Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak etanol dari kulit akar mangrove kedabu dilarutkan dengan aseton dan ditotolkan pada plat KLT GF254. Totolan tersebut dielusi menggunakan fase gerak etil asetat:n-heksana:metanol (9:1:0,1). Hasil elusi dikeringkan, kemudian diamati dibawah sinar tampak, UV 254 nm, dan UV 366 nm. Analisis senyawa dilakukan dengan disemprot dengan berbagai pereaksi. Golongan senyawa alkaloid dideteksi dengan pereaksi semprot Dragendorff, flavonoid dideteksi dengan pereaksi semprot sitroborat, fenolik dideteksi dengan pereaksi semprot FeCl₃, steroid dideteksi

dengan pereaksi semprot Lieberman-Burchard, dan terpenoid dideteksi dengan pereaksi semprot vanilin asam sulfat. Hasil deteksi senyawa-senyawa tersebut diamati di bawah sinar tampak, UV 254 nm, dan UV 366 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

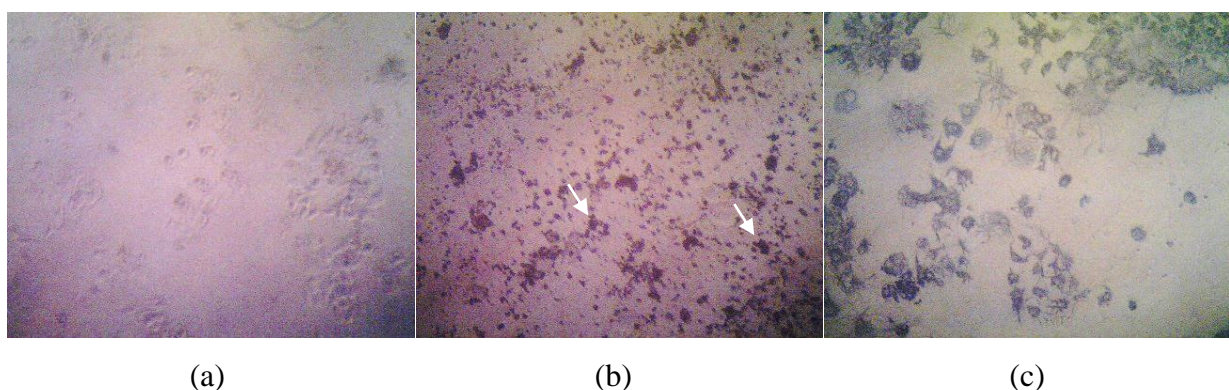
Tumbuhan mangrove kedabu yang dijadikan sebagai sampel, yaitu bagian kulit akar yang diambil dari hutan di Kecamatan Kendawangan, Kabupaten Ketapang, Kalimantan Barat. Determinasi dilakukan untuk melihat kecocokan morfologi sampel tumbuhan dengan tumbuhan pada pustaka/literatur. Hasil determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta menyatakan dengan surat keterangan No: 033/A.E-I/LAB.BIO/XI/2019 bahwa tumbuhan sampel adalah mangrove kedabu dengan nama latin *Sonneratia ovata* Back yang termasuk dalam familia *Lythraceace* dan genus *Sonneratia*. Kunci determinasi dari mangrove kedabu ini, yaitu *Group G* : pohon dan semak, 1b; 4a; 5a; 6b; 9b; 24a; 25b (*Sonneratia spp.*), 30b; 31b; 33b (*Sonneratia ovata*) berdasarkan *Mangrove Guidebook for Southeast Asia* tahun 2007.

Kulit akar mangrove kedabu diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Metode maserasi digunakan karena merupakan metode utama pada tahap ekstraksi kasar dan sampel yang digunakan fleksibel. Etanol 96% digunakan sebagai pelarut karena merupakan pelarut pilihan utama untuk mengekstraksi metabolit sekunder yang belum diketahui golongan senyawanya (Saifudin, 2014). Ekstrak etanol 96% difraksinasi dengan metode partisi cair-cair. Fraksinasi dilakukan menggunakan penyari yang berbeda kepolarannya dengan tujuan memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya untuk mendapatkan fraksi aktif atau ekstrak aktif (Saifudin, 2014). Penyari yang digunakan adalah n-heksana, etil asetat, dan etanol:air. Berdasarkan hasil rendemen ketiga fraksi, didapatkan kulit akar mangrove kedabu lebih banyak mengandung senyawa polar daripada senyawa semi polar dan non polar. Hasil dari rendemen ekstrak dan tiga fraksi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Data rendemen ekstrak dan tiga fraksi kulit akar mangrove kedabu

	Bobot (gram)	Randemen (%)
Simplisia	200,00	-
Ekstrak etanol	15,94	7,97
Fraksi n-heksana	0,51	10,2
Fraksi etil asetat	0,53	10,6
Fraksi etanol:air	1,46	29,2

Uji sitotoksik dapat dilakukan dengan beberapa metode, salah satunya dengan metode MTT *assay*. MTT *assay* merupakan *assay* pada mikroskop tanpa memerlukan transfer sel yang digunakan untuk mengukur proliferasi dan sitotoksik terhadap sel (Siregar and Hadijono, 2000). Prinsip MTT *assay* adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3(4,5dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazoliumbromid) oleh sistem reduktase (CCRC UGM, 2009). Pengujian didasarkan pada reduksi garam tetrazolium oleh enzim *succinate dehydrogenases* pada mitokondria menghasilkan kristal garam formazan ungu (Gambar 1c) yang tidak larut dan dilarutkan dengan menambahkan SDS yang kemudian dibaca menggunakan ELISA *reader* untuk mendapatkan nilai IC₅₀ (Duval *et al.*, 2012). Warna ungu dengan intensitas tinggi menandakan tingginya jumlah sel hidup yang berbanding lurus dengan nilai absorbansi pada saat pembacaan dengan ELISA *reader* (Haryoto, 2013).



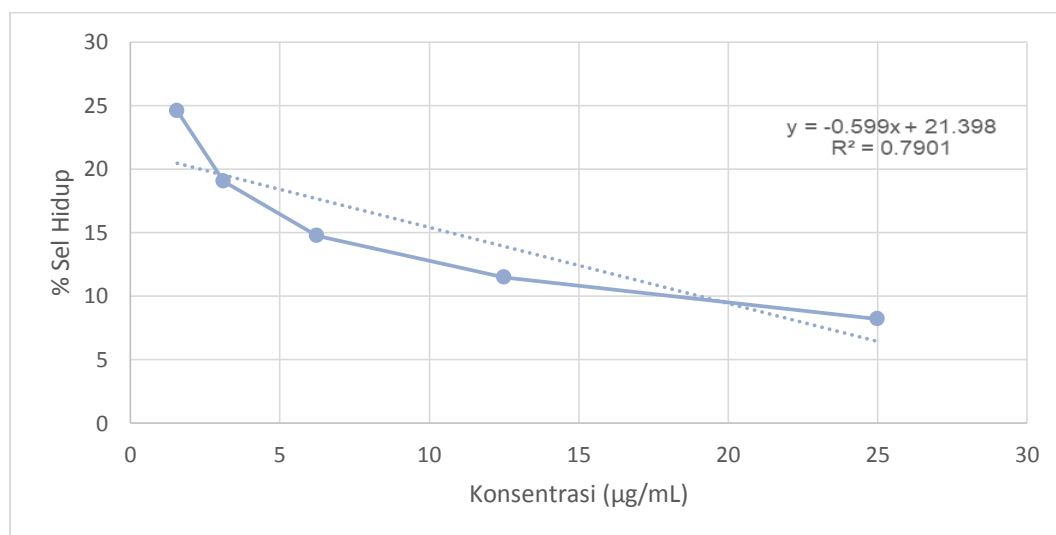
Gambar 1. Morfologi Sel MCF-7 pada kontrol sel (a), Sel MCF-7 setelah perlakuan fraksi etil asetat 800 µg/mL (b), Kristal formazan yang terbentuk setelah pemberian pereaksi MTT (c)

Sel yang digunakan adalah MCF-7 yang merupakan sel non-mutan p53 yang dapat mengekspresikan reseptor alfa (COMŞA *et al.*, 2015). Sel MCF-7 adalah estrogen responsif yang sering digunakan dalam penelitian kanker payudara secara *in vitro* untuk mempelajari reseptor estrogen dan biologi kanker payudara (Vantangoli *et al.*, 2015). Sel MCF-7 memiliki morfologi berbentuk oval atau bulat yang bergerombol dan tidak berwarna (Gambar 1a). Sel yang telah diberi perlakuan fraksi etil asetat 800 µg/mL morfologi sel kanker berubah menjadi lebih kecil dan berwarna hitam (Gambar 1b). Sel yang mengalami kematian ditandai dengan inti sel berwarna hitam dan bentuk sel mengecil (Haryoto and Hapsari, 2017).

Tabel 2. Data hasil % sel hidup sel MCF-7 setelah diberi perlakuan kontrol positif epirubisin

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata % sel hidup
1,5625	24,55
3,125	19,04
6,25	14,73
12,5	11,46
25	8.18

Kontrol positif yang digunakan adalah epirubisin. Epirubisin merupakan agen antibiotik antikanker yang sering digunakan untuk mengobati tumor padat seperti kanker payudara dengan menekan DNA dan RNA pada sintesis sel kanker sehingga mengganggu transkripsi. Selain itu, epirubisin dapat menekan aktivitas topoisomerase II dan meningkatkan reguasi *reactive oxygen species* (ROS) sehingga membunuh sel-sel kanker dengan berbagai mekanisme (Liu *et al.*, 2017). Hasil persentase sel hidup terbesar yang didapat dari epirubisin adalah 14,73% sehingga nilai IC_{50} epirubisin tidak bisa dihitung karena persentase sel hidup MCF-7 terbesar $< 50\%$ (Tabel 2). Pengaruh dari konsentrasi epirubisin terhadap persentase sel hidup menunjukkan hubungan yang linier (Gambar 2).

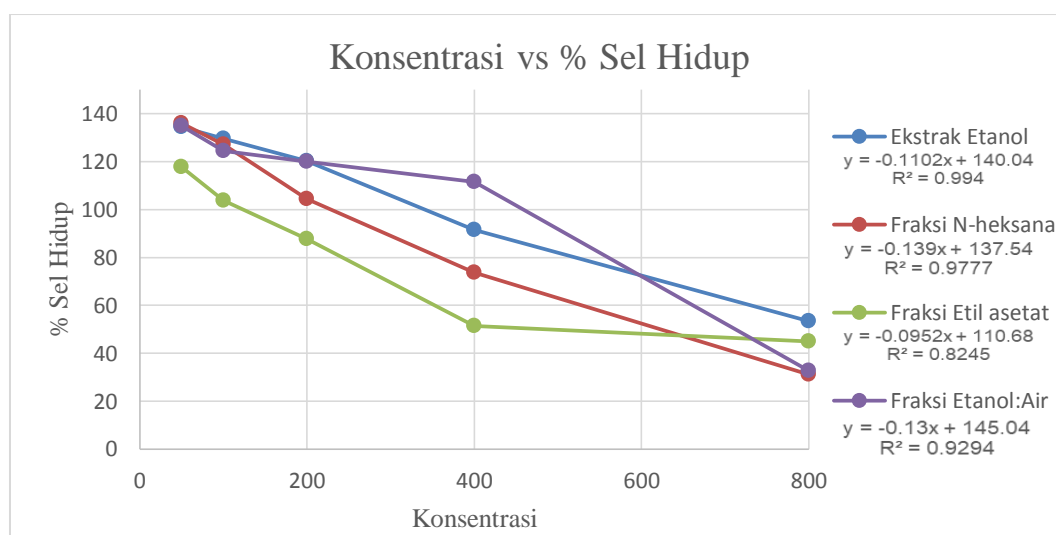


Gambar 2. Grafik pengaruh pemberian epirubisin terhadap persentase sel hidup MCF-7

Potensi sitotoksik pada sel kanker diketahui dengan menghitung persentase sel hidup dan besarnya potensi dilihat dari kecilnya nilai IC_{50} yang merupakan konsentrasi untuk membunuh

setengah dari sel kanker (Haryoto, 2013). Senyawa (7S,8R)-Dehidrokoniferil alkohol; (7S,8R)-5-metoksideohidrokoniferil alkohol; dan sonnerfenolik C yang diisolasi dari daun mangrove kedabu menunjukkan efek pernghambatan sel yang selektif dan moderat terhadap sel MCF-7 dengan IC_{50} berturut-turut $146,9 \pm 9,0$; $114,5 \pm 7,2$; dan $112,8 \pm 9,4 \mu\text{M}$ (Nguyen *et al.*, 2015). Kandungan senyawa yang diisolasi dari buah mangrove kedabu adalah (-)-(R)-nyasol, (-)-(R)-4'-Ometilnyasol dan asam maslinat menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap tikus glioma *cell line* dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 19,02; 20,21; dan 31,77 $\mu\text{g/mL}$ (Wu *et al.*, 2009). Aktivitas sitotoksik berdasarkan IC_{50} dibagi menjadi tiga, yaitu potensial dimana nilai IC_{50} kurang dari 100 $\mu\text{g/mL}$, moderat dimana nilai IC_{50} berkisar 100-1000 $\mu\text{g/mL}$, dan tidak memiliki aktivitas sitotoksik dimana nilai IC_{50} lebih dari 1000 $\mu\text{g/mL}$ (Prayong *et al.*, 2008).

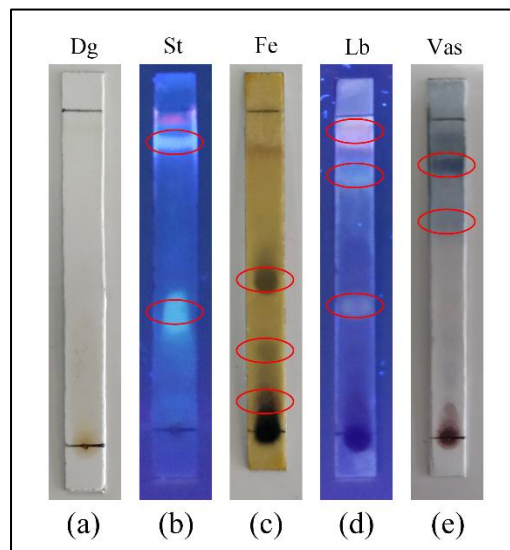
Hasil pembacaan absorbansi menggunakan ELISA *reader* pada 96-well *plate* dengan panjang gelombang 550 nm digunakan untuk menghitung persentase sel hidup dan nilai IC_{50} . Pengaruh dari konsentrasi ekstrak etanol dan tiga fraksi dari kulit akar mangrove kedabu terhadap persentase sel hidup MCF-7 menunjukkan aktivitas dimana semakin tinggi konsentrasi maka semakin kecil persentase sel hidup (Gambar 3). Nilai IC_{50} dari fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol:air dari kulit akar mangrove kedabu pada penelitian ini masing-masing, yaitu 644,008; 595,164; dan 1143,688 $\mu\text{g/mL}$ sehingga dikategorikan memiliki aktivitas sitotoksik moderat terhadap sel kanker MCF-7 dilihat dari nilai IC_{50} yang berkisar 100-1000 $\mu\text{g/mL}$ pada fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan pada fraksi etanol:air tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7 dilihat dari nilai IC_{50} lebih dari 1000 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} dari ekstrak etanol dari kulit akar mangrove kedabu tidak bisa dihitung karena persentase sel hidup rata-rata terkecil $> 50\%$ (Gambar 3), sehingga ekstrak etanol tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7.



Gambar 3. Grafik konsentrasi ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol:air terhadap persentase sel hidup MCF-7

Perbedaan hasil aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7 dari penelitian sebelumnya (Nguyen *et al.*, 2015) dikarenakan perbedaan bagian tumbuhan yang digunakan sebagai sampel dan pada penelitian sebelumnya dilakukan penelitian aktivitas sitotoksik pada tingkat isolasi senyawa sedangkan pada penelitian ini hanya pada golongan senyawa metabolit sekunder. Selain itu, asal tumbuhan yang diambil sebagai sampel juga mempengaruhi dari kualitas sampel yang digunakan karena faktor kualitas tanah, perbedaan unsur hara didalam tanah, curah hujan, dan paparan sinar matahari.

Ekstrak kulit akar mangrove kedabu dianalisis kandungan senyawanya menggunakan metode KLT. KLT merupakan metode yang sederhana dan banyak digunakan. Selain itu, KLT dapat mengatasi sampel yang terkontaminasi, kromatogram dapat dievaluasi, mempersingkat proses perlakuan sampel sehingga hemat waktu dan biaya (Lestyo, 2011). Analisis senyawa dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot Dragendorff, sitroborat, FeCl_3 , Lieberman-Burchard, dan vanilin asam sulfat diamati di bawah sinar tampak, UV 254 nm, dan UV 366 nm.



Gambar 4. Hasil KLT ekstrak etanol kulit akar mangrove kedabu dengan fase diam silika gel GF_{254} dan fase gerak etil asetat:n-heksana:metanol (9:1:0,1) setelah disemprot Dragendorff pada sinar tampak (a), sitroborat pada sinar UV 366 nm (b), FeCl_3 pada sinar tampak (c), Lieberman-Burchard pada sinar UV 366 nm (d), dan vanilin asam sulfat pada sinar tampak (e).

Plat KLT yang telah disemprot dengan pereaksi Dragendorff (Gambar 4a) menunjukkan hasil yang negatif karena tidak terdapat bercak berwarna orange-kecoklatan ketika diamati dengan sinar

tampak (Haryoto and Hapsari, 2017). Hal ini menandakan bahwa ekstrak etanol kulit akar mangrove kedabu tidak mengandung golongan senyawa alkaloid. Plat KLT yang telah disemprot dengan masing-masing pereaksi sitroborat (Gambar 4b) dan pereaksi Lieberman-Burchard (Gambar 4d) menunjukkan hasil yang positif karena terdapat bercak berwarna kuning kehijauan dan biru ungu kehijauan ketika diamati pada lampu UV 366 nm (Haryoto and Hapsari, 2017; Syamsudin *et al.*, 2007). Hal ini menandakan bahwa ekstrak etanol kulit akar mangrove kedabu mengandung golongan senyawa flavonoid dan steroid. Plat KLT yang telah disemprot dengan masing-masing pereaksi FeCl_3 (Gambar 4c) dan vanilin asam sulfat (Gambar 4e) menunjukkan hasil yang positif karena terdapat bercak berwarna warna hitam dan ungu sampai merah muda ketika diamati pada sinar tampak (Susanti *et al.*, 2017; Alen *et al.*, 2017). Hal ini menandakan bahwa ekstrak etanol kulit akar mangrove kedabu mengandung golongan senyawa fenolik dan steroid. Hasil analisis senyawa dengan KLT, ekstrak etanol kulit akar mangrove kedabu mengandung golongan senyawa flavonoid, terpenoid, steroid, dan fenolik (Tabel 3).

Tabel 3. Data hasil analisis senyawa ekstrak etanol kulit akar mangrove kedabu

	Sinar tampak	UV 366 nm	Golongan Senyawa
Dragendorff	-	-	-
Sitroborat	-	(+) Kuning kehijauan	Flavonoid
FeCl_3	(+) Hitam	-	Fenolik
Lieberman-Burchard	-	(+) Biru ungu kehijauan	Steroid
vanilin asam sulfat	(+) Ungu-merah muda	-	Terpenoid

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, *Sonneratia ovata* mengandung golongan senyawa flavonoid, terpenoid, steroid, dan fenolik (Nurmalasari *et al.*, 2016; Nguyen *et al.*, 2015) sehingga hasil analisis senyawa KLT ekstrak etanol kulit akar mangrove kedabu sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya. Golongan senyawa flavonoid memiliki aktivitas sitotoksik yang terdapat pada banyak tumbuhan (Ren *et al.*, 2003) dengan menginduksi HER2/ERBB2, reseptor estrogen, progesteron, dan p53 yang dibutuhkan untuk sitotoksitas sel kanker payudara (Yadegarynia *et al.*, 2012). Senyawa (7S,8R)-Dehidrokoniferil alkohol; (7S,8R)-5 metoksidehidrokoniferil alkohol; dan sonnerfenolik C yang merupakan golongan senyawa fenolik memiliki aktivitas sitotoksik yang moderat terhadap sel kanker MCF-7 (Nguyen *et al.*, 2015).

4. PENUTUP

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat dari kulit akar mangrove kedabu memiliki potensi aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7 dengan nilai IC₅₀ masing-masing, yaitu 644,008 dan 595,164 µg/mL. Ekstrak etanol dan fraksi etanol:air tidak memiliki potensi aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7. Golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol kulit akar mangrove kedabu, yaitu flavonoid, terpenoid, steroid, dan fenolik.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Dimassi S., Abou-Antoun T. and El-Sibai M., 2014, Cancer cell resistance mechanisms: A mini review, *Clinical and Translational Oncology*, 16 (6), 511–516.
- Alen Y., Agresa F.L. and Yuliandra Y., 2017, Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan, *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3 (2), 146–152.
- CCRC UGM, 2009, Prosedur tetap Uji Sitotoksik Metode MTT, *Cancer Chemoprevention Research Center Farmasi UGM Yogyakarta*, 6–9.
- COMŞA Ş., CÎMPEAN A.M. and RAICA M., 2015, The Story of MCF-7: Anticancer research., *Anticancer Research*, 35 (6), 3147–3154.
- Dahdouh-Guebas F., 2011, World Atlas of Mangroves: Mark Spalding, Mami Kainuma and Lorna Collins (eds), *Human Ecology*, 39 (1), 107–109.
- Duval R.E., Clarot I., Dumarcay-Charbonnier F., Fontanay S. and Marsura A., 2012, Interest of designed cyclodextrin-tools in gene delivery, *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 70 (6), 360–369. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharma.2012.09.005>.
- Giesen, W., S. Wulffraat, M. Zieren and L. Scholten., 2007, *Mangrove Guidebook for Southeast Asia*, FAO and Wetlands International.
- Globocan, 2018, *Estimated age-standardized incidence and mortality rates (World) in 2018, worldwide, both sexes, all ages*. Terdapat di: <http://gco.iarc.fr> [Di akses pada 26 Februari 2019].
- Handoko F.F., Maruti A.A., Rivanti E., Putri D.D.P. and Meiyanto E., 2011, Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanolik Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) Terhadap Sel Kanker Serviks {HeLa} dan Sel Kanker Kolon {WiDr}, *Majalah Kesehatan Pharmamedika*, 3 (1), 222–226. Terdapat di: <http://indonesia.digitaljournals.org/index.php/kespha/article/view/1092>.
- Haryoto, 2013, Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn) Terhadap Sel HeLa, T47D dan WiDR, *Jurnal Penelitian Saintek*, 18 (2), 21–28.
- Haryoto, 2013, *Teknik Uji Hayati Untuk Pengembangan Obat*, Fairuz Media, Surakarta.
- Haryoto and Hapsari A., 2017, Sitotoksitas Ekstrak Etanol Dan Tiga Fraksinya Herba Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl.) Terhadap Sel MCF-7, *the 5Th Urecol Proceeding*, (February), 1502–1513.
- Haryoto and Putri S.P., 2019, Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol , Fraksi Heksan , Etil Asetat dan Etanol-Air dari Daun Mangrove Tancang (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap Sel Kanker Payudara, , (2018), 177–183.

- Kemenkes RI, 2015, *Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Indonesia : STOP KANKER*, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Lestyo W., 2011, *Kromatografi Lapis Tipis*, PT. Taman Kampus Presindo, Jember.
- Liu L., Mu L.M., Yan Y., Wu J.S., Hu Y.J., Bu Y.Z., Zhang J.Y., Liu R., Li X.Q. and Lu W.L., 2017, The use of functional epirubicin liposomes to induce programmed death in refractory breast cancer, *International Journal of Nanomedicine*, 12, 4163–4176.
- Matan O., Marsono D. and Ritohardoyo S., 2010, Keanekaragaman Dan Pola Komunitas Hutan Mangrove Di Andai Kabupaten Manokwari, *Majalah Geografi Indonesia*, 24, 36–53.
- Nguyen T.H.T., Pham H.V.T., Pham N.K.T., Quach N.D.P., Pudhom K., Hansen P.E. and Nguyen K.P.P., 2015, Chemical constituents from *Sonneratia ovata* Backer and their in vitro cytotoxicity and acetylcholinesterase inhibitory activities, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 25 (11), 2366–2371. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.04.017>.
- Nurmalasari F., Ersam T. and Fatmawati S., 2016, Isolasi Senyawa Antioksidan dari Kulit Batang *Sonneratia ovata* Backer, *Jurnal Sains Dan Seni Its*, 5 (2), 3–7.
- Prayong P., Barusrux S. and Weerapreeyakul N., 2008, Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants, *Fitoterapia*, 79 (7–8), 598–601. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2008.06.007>.
- Ren W., Qiao Z., Wang H., Zhu L. and Zhang L., 2003, Flavonoids: Promising anticancer agents, *Medicinal Research Reviews*, 23 (4), 519–534.
- Saifudin A., 2014, *Senyawa Malam Metabolit Sekunder*, DEEPUBLISH, Yogyakarta.
- Siregar F. and Hadijono B.S., 2000, Uji Sitotoksitas Dengan ESEI MTT, *Kedokteran Gigi Universitas Indonesia*, 7 (0854–364), 28–32.
- Susanti N.M.P., Dewi L.P.M.K., Manurung H.S. and Wirasuta I.M.A.G., 2017, IDENTIFICATION OF PHENOL COMPOUND IN GREEN Piper betle LEAF ETHANOL EXTRACT BY THE TLC-SPECTROPHOTODENSITOMETRY METHOD, *Jurnal Metamorfosa*, 4 (1), 108–113.
- Syamsudin, Tjokrosonto S., Wahyuono S. and Mustofa, 2007, Aktivitas antiplasmodium dari dua fraksi ekstrak n-heksana kulit batang asam kandis (*Garcinia parvifolia* Miq) Antiplasmodial activity of two fractions obtained from n-hexane extract of *Garcinia parvifolia* Miq stem bark, , 18 (4), 210–215.
- Vantangoli M.M., Madnick S.J., Huse S.M., Weston P. and Boekelheide K., 2015, MCF-7 human breast cancer cells form differentiated microtissues in scaffold-free hydrogels, *PLoS ONE*, 10 (8), 1–20.
- Wu S.B., Wen Y., Li X.W., Zhao Y., Zhao Z. and Hu J.F., 2009, Chemical constituents from the fruits of *Sonneratia caseolaris* and *Sonneratia ovata* (Sonneratiaceae), *Biochemical Systematics and Ecology*, 37 (1), 1–5. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2009.01.002>.
- Yadegarynia S., Pham A., Ng A., Nguyen D., Lialitska T., Bortolazzo A., Sirvryuk V., Bremer M. and Whtie J.B., 2012, Profiling Flavonoid Cytotoxicity in Human Breast Cancer Cell Lines: Determination of Structure-Function Relationships Sina, *Natural Product Communications*, 7 (10), 1295–1304.
- Yudhani R.D., 2014, Farmakogenomik dan Terapi Kanker, *Continuing Development Professional*, 41 (6), 412–415.